Journal of Agroecology
Homepage: https://agry.um.ac.ir/

Research Article
Vol. 14, No. 3, Fall 2022, p. 561-578

Evaluation of Biochar Application with Organic and Biological Fertilizers on the Quantity and Quality of Peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential Oil in Ecological Agriculture

F. Zaefarian[1]*, V. Akbarpour[2], M. Kaveh[3] and M. Habibi[3]

Received: 27-08-2020
Revised: 01-05-2021
Accepted: 06-11-2021
Available Online: 13-12-2022

How to cite this article:
Zaefarian, F., Akbarpour, V., Kaveh, M., and Habibi, M., 2022. Evaluation of biochar application with organic and biological fertilizers on the quantity and quality of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil in ecological agriculture. Journal of Agroecology 14(3): 561-578.
DOI: 10.22067/agry.2021.20307.0

Introduction

Cultivation of medicinal and aromatic plants has had long a special rank in the traditional agricultural systems of Iran and these systems have played an important role in creating diversity and sustainability. Management of soil nutrients using organic fertilizers is among the major pillars of sustainable agriculture. Peppermint (*Mentha piperita* L.) is a medicinal plant, in which proper nutrition and absorption of mineral elements play an important role in increasing its quantitative and qualitative performance. The high cost of fertilizers in farming systems, soil pollution, and degradation of soil are factors that caused to full use of available renewable nutrient sources of the plant (organic and biological) with the optimal application of fertilizers in order to maintain fertility, structure, biological activity, exchange capacity and water-holding capacity of the water in the soil. The global approach to balance nutrition and the production of medicinal plants, towards the use of sustainable agricultural systems and the use of management methods, such as the application of biofertilizers, is improving the quantitative and qualitative performance of these plants. So, the use of natural inputs such as organic and biological fertilizers seems to be a good way to move towards a sustainable production system. Accordingly, due to the possible effect of organic fertilizers such as biochar and vermicompost and biological fertilizers like mycorrhizal fungi and plant growth-promoting bacteria on the quantity and quality of peppermint essential oil, this research was carried out under organic conditions.

Materials and Methods

The present research was conducted as a factorial layout based on a randomized complete block design in three replications at Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University in 2017. The experimental site is located at 36º 39′42″ N latitude and 53º03´54″ E longitude with -11 m above sea level. Soil samples were taken from depths of 0-30 cm before land preparation. Treatment consisted of biochar on two levels (0 and 10 ton ha^{-1}) and organic and biological fertilizers on five levels (no fertilizer, vermicompost (10 ton ha^{-1}), *Pseudomonas fluorescens*, *Azotobacter* and *Arbuscular mycorrhizal* (*Glomus mosseae, G. intradices* and *G. etunicatum*. Weeds and pests were controlled mechanically or by hand and no herbicides or pesticides were used. The measured properties also included the peppermint yield, essential oil, and essential oil compounds.

1- Associate Professor, Department of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Horticulture, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran.
3- Ph.D. Student, Department of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran.
* Corresponding author; fa.zaefarian@ sanru.ac.ir

Results and Discussion

The results of the analysis of variance showed that the simple effects of biochar and organic and biological fertilizers had a significant effect on the shoot fresh weight at 1% of probability level, while the interaction effect of experimental treatments on this trait did not have a significant effect. According to the results, the application of 10 tons ha^{-1} of biochar, caused a 42.96% increase in shoot fresh weight compared to no application. In the study of the simple effect of organic and biological fertilizers on shoot fresh weight, the results showed that the highest and lowest ones were obtained with mycorrhiza application and control (no application of organic and biological fertilizers) with an average of 667.95 and 418.08 g m^{-2}, respectively. The highest shoot dry weight with an average of 89.08 g m^{-2} was associated with the combined use of biochar and mycorrhiza and the lowest one belonged to the control (no application of biochar and organic and biological fertilizers) with an average of 61.76 g m^{-2}. The results also showed that the interaction of biochar and organic and biological fertilizers on essential oil compounds such as Menthone, Menthol, α-Pinene, Cineol-1,8, iso Menthone, Pulegone, Piperitone oxide, Menthyl acetate, and Menthofuran was significant.

Conclusion

In general, the results showed that the use of biochar and biological and organic fertilizers can be effective in both the quality and quantity of peppermint essential oil when the highest percentage of essential oil and the most peppermint essential oil compounds were obtained in treatments with an application of biochar and biological and organic fertilizers. Where, the use of the bacterium *Azobacter* and *Pseudomonas* with biochar had the greatest effect on the quality of peppermint essential oil, especially in Menthol and Menton compounds. Finally, it can be concluded that the combined use of biochar with biological fertilizers has a significant impact on the quantitative and qualitative increase of peppermint essential oil in ecological or low-input agriculture.

Keywords: *Azotobacter*, Menthol, Menthone, *Mycorrhizal*, *Pseudomonas*, vermicompost.

نشریه بوم شناسی کشاورزی
Homepage: https://agry.um.ac.ir/

مقاله پژوهشی

ارزیابی کاربرد بیوچار به‌همراه کودهای آلی و زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) در کشاورزی اکولوژیک

فائزه زعفریان[1*]، وحید اکبرپور[2]، محمد کاوه[3] و مریم حبیبی[3]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۶
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۲/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۵

زعفریان، ف.، اکبرپور، و.، کاوه، م.، و حبیبی، م.، ۱۴۰۱. ارزیابی کاربرد بیوچار به‌همراه کودهای آلی و زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) در کشاورزی اکولوژیک. بوم‌شناسی کشاورزی ۱۴(۳): ۵۷۸-۵۶۱.

چکیده

کشت گیاهان دارویی و معطر از دیرباز دارای جایگاه ویژه‌ای در نظام‌های سنتی کشاورزی ایران بوده و این نظام‌ها از نظر ایجاد تنوع و پایداری نقش مهمی ایفا کرده‌اند. از بین گیاهان دارویی می‌توان به نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) اشاره کرد که تغذیه و جذب مناسب عناصر معدنی نقش به‌سزایی در افزایش عملکرد کمّی و کیفی آن دارد. پژوهش حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در سال ۱۳۹۶ به اجرا درآمد. عوامل مورد مطالعه شامل بیوچار در دو سطح (صفر و ۱۰ تن در هکتار) و کودهای آلی و زیستی در پنج سطح (عدم مصرف کود، *ازتوباکتر*، *سودوموناس*، میکوریزا و ورمی‌کمپوست) و صفت‌های اندازه‌گیری شده نیز شامل عملکرد، درصد و ترکیبات اسانس نعنا فلفلی بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی بیوچار و کودهای آلی و زیستی تأثیر معنی‌داری بر وزن تر اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد داشت، درحالی‌که برهم‌کنش تیمارهای آزمایش بر این صفت معنی‌دار نشد. بر اساس نتایج، مصرف ۱۰ تن در هکتار بیوچار سبب افزایش ۴۲/۹۶ درصدی وزن تر اندام هوایی در مقایسه با عدم مصرف آن شد. در بررسی اثر اصلی کودهای آلی و زیستی نتایج گویای این مطلب بود که بیشترین و کمترین وزن تر اندام هوایی در مترمربع به‌ترتیب در تیمارهای آزمایشی میکوریزا و شاهد (عدم مصرف کود آلی و زیستی) با میانگین ۶۶۷/۹۵ و ۴۱۸/۰۸ گرم در مترمربع حاصل شد. بیشترین وزن خشک اندام هوایی گیاه با میانگین ۸۹/۰۸ گرم در مترمربع مربوط به مصرف توأم بیوچار و میکوریزا و کمترین متعلق به شاهد (عدم مصرف بیوچار و کود آلی و زیستی) با میانگین ۶۱/۷۶ گرم در مترمربع بود. همچنین نتایج حاکی از آن بود که اثر متقابل بیوچار و کودهای آلی و زیستی روی ترکیبات اسانس مانند Menthone، Menthol، α-Pinene، Cineol-1,8، iso Menthone، Pulegone، Piperitone oxide، Menthyl acetate و Menthofuran معنی‌دار گردید. به‌طور کلی، نتایج نشان داد که کاربرد بیوچار می‌تواند هم در کیفیت و هم در کمیت اسانس نعنا فلفلی مؤثر باشد، به‌طوری‌که بیشترین درصد اسانس و اکثر ترکیبات اسانس نعنا فلفلی در تیمارهای همراه با مصرف بیوچار به‌دست آمد. از طرفی دیگر، کاربرد کودهای زیستی و آلی توانست منجر به افزایش درصد اسانس و ترکیبات کیفی اسانس نعنا فلفلی شود. در این بین، کاربرد باکتری *ازتوباکتر* و *سودوموناس* به‌همراه بیوچار بیشترین تأثیر را بر کیفیت اسانس نعنا فلفلی به‌خصوص در ترکیبات منتول و منتون داشتند. در نهایت، می‌توان اذعان داشت که کاربرد توأمان بیوچار به همراه کودهای زیستی می‌تواند تأثیر زیادی در افزایش کمّی و کیفی اسانس نعنا فلفلی در کشاورزی اکولوژیک داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: *ازتوباکتر*، *سودوموناس*، منتول، منتون، میکوریزا، ورمی‌کمپوست

۱- دانشیار، گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.
۲- استادیار، گروه باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.
۳- دانشجوی دکتری زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: fa.zaefarian@sanru.ac.ir)

DOI: 10.22067/agry.2021.20307.0

مقدمه

کشت گیاهان دارویی و معطر از دیرباز دارای جایگاه ویـژه‌ای در نظام‌های سنتی کشاورزی ایران بوده و این نظام‌ها از نظر ایجاد تنـوع و پایداری نقش مهمی ایفا کرده‌اند. از بین گیاهان دارویی می‌توان به نعنا فلفلی (*Mentha piperita* L.) اشـاره کـرد کـه تغذیـه و جـذب مناسب عناصر معدنی پرمصرف و بهبود غلظت آن‌هـا در گیـاه، نقـش به‌سزایی در افزایش عملکرد کمّـی و کیفـی آن دارد (Omid Beigi, 2000). نعنا فلفلی گیاهی از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) می‌باشـد و به‌عنوان سبزی، ادویه و گیاه دارویی کشت و استفاده می‌شـود. ایـن گیاه یک هیبرید طبیعی از تلاقی میان پونـه آبـی یـا سوسـنبر (*M. aqutica*) و نعناع یا پونه سنبله‌ای (*M. spicata*) می‌باشد (Sun et al., 2014). منتول و منتون اصلی‌ترین جزء اسانس نعنا فلفلی بوده و خواص ضد میکروبی دارند (Dai et al., 2010). اسانس ایـن گیـاه مایعی شفاف، قابل حل در اتانول ۷۰ درصد و به‌رنـگ زرد روشـن یـا سبز متمایل به زرد است. چگالی نسبی اسانس نعنا فلفلی بین ۰/۸۹۶ تا ۰/۹۰۸ گرم بر میلی‌لیتـر و ضـریب شکسـت آن ۱/۴۵۷ تـا ۱/۴۶۷ است. همچنین میزان اسیدیته اسانس رقیق شده (۱۰:۱) حـداکثر ۱/۴ است (USP37 - NF32. U.S, 2014). اسانس نعنا فلفلی می‌تواند دردهای آرتریتی، روماتیسمی و دردهای مزمن را به‌دلیل اثرات ضـد دردی که دارد، کاهش دهد (Adel et al., 2015). همچنین اسـانس این گیاه به‌دلیل خصوصیات ضدعفونی‌کنندگی مـی‌توانـد بـه بهبـود سردرد سینوزیتی و جلوگیری از پوسیدگی دنـدان کمـک کنـد (Seif Sahandi et al., 2018).

یکی از فاکتورهای زراعی مؤثر در رشد و عملکـرد کمّـی و کیفـی گیاهان دارویی، تغذیه کودی می‌باشد. اسانس‌ها، متابولیت‌های ثانویـه گیاهی هستند که اگر چـه تحـت تـأثیر فرآینـدهای ژنتیکـی سـاخته می‌شوند، امّا ساخت آن‌ها به‌طور آشکاری تحت تأثیر عوامل محیطـی قرار می‌گیرد (Heywood, 2002). از مهم‌ترین عوامل محیطـی کـه تأثیر بسیار عمده‌ای بر رشد گیاهان دارویی و کمیـت و کیفیـت مـواد مؤثره آن‌ها می‌گذارد، می‌توان به شرایط رشدی، اقلیم و عناصر غذایی اشاره نمود (Street, 2012). همچنین طبق استاندارد سـازمان گیـاه درمانی اروپا[1]، مقدار منتول معیار اصلی در تعیین کیفیـت اسـانس نعنـا فلفلی است (Kumar et al., 2004) که مـی‌تـوان بـا بـه‌کـارگیری فاکتورهای زراعی مناسب در راستای افزایش عملکرد کمّی و کیفی آن گام برداشت. کـاربرد وسـیع نهـاده‌هـای دخیـل در امـر تولیـد جهـت دستیابی به عملکرد بالا، از یک طرف، و لـزوم عـاری بـودن گیاهـان دارویی از بقایای شیمیایی در طـی مراحـل تولیـد، فـرآوری و عرضـه آن‌ها، از طرف دیگر، ضرورت کاربرد نهاده‌های بـوم‌سـازگار در تولیـد این گیاهان را بیش از پیش نمایان می‌سـازد (Jahan et al., 2012). کاربرد ناصحیح کودهای شـیمیایی باعـث مشـکلات زیسـت‌محیطـی زیادی نظیر تخریب ساختمان فیزیکی خاک، عدم تعادل غذایی خاک، اوتریفیکاسـیون آب‌هـا و در نهایـت، کـاهش عملکـرد مـی‌شـود (Mafakheri, 2017)؛ لذا به‌منظور حفظ حاصـلخیزی خـاک، بهبـود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن و حفـظ تعـادل در عوامـل زیسـت محیطی، مصرف کودهای آلی و زیستی در خاک‌های کشاورزی امـری اجتناب‌ناپذیر بوده که در جهت نیل بـه‌سـوی کشـاورزی پایـدار مـورد توجه قرار گرفته‌اند (Wu et al., 2005).

ورمی‌کمپوست شامل مخلوط زیستی بسیار فعـالی از بـاکتری‌هـا، آنزیم‌ها، بقایای گیاهی و پیله‌های کرم خاکی می‌باشد کـه اسـتفاده از آن علاوه‌بر افزایش جمعیت و فعالیت ریزجانداران مفیـد خـاک سـبب فراهم شدن عناصر غذایی محلول مورد نیاز گیاه شده که بهبود رشد و عملکـرد گیـاه را بـه‌دنبـال دارد (Fayazi et al., 2014). همچنـین به‌دلیل داشتن ویژگی هوموسی باعث نرمی بافت خاک، افزایش تهویه و ظرفیـت نگهـداری آب خـاک مـی‌شـود (Habibi & Majidian, 2014). در بررسـی اثـر محلـول‌پاشـی چـای ورمـی‌کمپوسـت بـر خصوصیات مورفولوژیک و اجزای عملکـرد گیـاه دارویـی نعنـا فلفلـی پژوهشگران اظهار داشتند که کاربرد عصاره آبـی ورمـی‌کمپوسـت در مقادیر مختلف باعث ایجاد تفاوت معنی‌داری در صفات اجزای عملکرد شامل وزن تر بـرگ و سـاقه، وزن خشـک بـرگ و سـاقه، وزن تـر و خشک تک بوته و وزن خشک گل‌آذین گردیـد (Pooyanfar et al., 2017). در تحقیقی دیگر، پژوهشـگران اظهـار داشـتند کـه مصـرف همزمان ورمی‌کمپوست و کمپوست موجب بهبود صفات کمّی و کیفی گیـاه بـه‌لیمـو (*Lippia citroiodora*) گردیـد (Asghari et al., 2016).

در دهه اخیر، استفاده از ماده‌ای به‌نام بیوچار به‌عنوان اصلاح‌کننده خاک مورد توجه پژوهشگران قـرار گرفتـه اسـت (Behnam et al.,

1-European Scientific Cooperative on Phytoterapy (ESCOP)

(2016). بیوچار کربن غنی‌شده می‌باشد که مواد مغذی را جذب کرده و از خارج شدن آن جلوگیری کرده و گیاه به‌تدریج مواد مغذی را جذب می‌کند، در نتیجه نیاز به کود و هزینه کوددهی کاهش یافته و عناصر برای مدت طولانی در خاک باقی می‌مانند. از طرفی، هم باعث حفظ و دسترسی به رطوبت در طول دوره گرم و کم‌بارش می‌شود (Yaghoby et al., 2014). طی پژوهشی محققین گزارش کردند که افزودن بیوچار باگاس نیشکر (*Saccharum officinarum*) طی هشت ماه دوره آزمایش، باعث افزایش معنی‌دار کربن آلی، نیتروژن کل، فسفر قابل جذب و ظرفیت تبادل کاتیونی و آنیونی خاک شد (Divband Hafshejani et al., 2017). در پژوهشی دیگر، محققین گزارش کردند که بیوچار با بهبود ویژگی‌های خاک و افزایش نگهداری آب در افزایش رشد گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) مؤثر بوده است(Abbaspour et al., 2017).

کودهای زیستی شامل سلول‌هایی زنده از انواع مختلف میکروارگانیسم‌ها هستند که قابلیت جذب عناصر غذایی را با استفاده از فرآیندهای زیستی برای گیاهان فراهم کرده و به توسعه سیستم ریشه آن‌ها کمک می‌کنند (Vessey, 2003). برخی از این ریزجانداران شامل ریزوباکترهای محرک رشد گیاه نظیر *آزوسپیریلوم* (*Azespirillum*)، *ازتوباکتر* (*Azotobacter*)، *سودوموناس فلورسنس* (*Pseudomonas fluorescens*) و چندین گونه *باسیلوس* (*Bacillus* spp.) هستند که اثرات مثبتی روی بهبود رشد گیاه دارند (Mehrafarin et al., 2011). در خصوص تأثیر کاربرد کودهای زیستی نیتروژنه بر رشد و عملکرد گیاهان دارویی، در پژوهشی روی گیاه ریحان (*Ocimum basilicum* L.) مشاهده گردید که مصرف توأم باکتری‌های *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم*، موجب افزایش ارتفاع بوته، عملکرد پیکره رویشی، میزان اسانس و عملکرد اسانس در مقایسه با شاهد گردید (Makizadeh et al., 2012).

قارچ‌های میکوریزی با داشتن شبکه هیفی گسترده و افزایش سطح و سرعت جذب ریشه، کارایی گیاهان را در جذب آب و عناصر غذایی به‌ویژه عناصر کم‌تحرک فسفر، روی و مس افزایش و موجب بهبود رشد آن‌ها می‌شوند. طی پژوهشی محققین اظهار داشتند که استفاده از میکوریزا از طریق فراهمی جذب بیشتر فسفر و نیتروژن توسط ریشه، که از اجزاء متشکله اسانس گیاه نعنا فلفلی می‌باشد، موجب افزایش میزان اسانس می‌گردد (Mohammadi et al., 2018). در رابطه با نقش کودهای زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی، در پژوهشی محققین نشان دادند که تلقیح گیاه دارویی نعناع (*Mentha arvensis* L.) با چهار گونه قارچ میکوریزی (*Glomus mosseae*; *G. intraradices*; *G. fasciculatum*; *G. aggregatum*) سبب افزایش بارز کمیت و کیفیت اسانس نعنا (درصد و عملکرد اسانس و درصد منتول) در شرایط غیرشور، در مقایسه با شاهد شد، به نحوی که بیشترین افزایش به‌ترتیب در *G. mosseae*، *G. intraradices*، *G. fasciculatum* و *G. aggregatum* مشاهده گردید (Bharti et al., 2013).

با توجه به تأثیر احتمالی کودهای آلی مانند بیوچار، ورمی‌کمپوست و کودهای زیستی مانند قارچ‌های میکوریزا و باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی نعنا فلفلی و همچنین با در نظر گرفتن اهمیت گسترش کشت گیاهان دارویی، به‌ویژه به‌روش اکولوژیک، این تحقیق به اجرا درآمد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر کودهای آلی و زیستی بر خصوصیات کمّی و کیفی و عملکرد گیاه نعنا فلفلی آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۴۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۳ درجه و ۱۳ دقیقه شرقی و میانگین ارتفاع از سطح دریا ۱۴ متر در سال ۱۳۹۶ به اجرا درآمد. عوامل مورد مطالعه شامل بیوچار در دو سطح (صفر و ۱۰ تن در هکتار) و کاربرد کودهای آلی و زیستی در پنج سطح (شاهد (عدم مصرف کود)، ورمی‌کمپوست (۱۰ تن در هکتار)، *سودوموناس* (*Pseudomonas fluorescens*)، *ازتوباکتر*(*Azotobacter chroococcum*)، میکوریزا (سویه‌های *Glomus mosseae*، *G. intradicces* و *G. etunicatum*) بودند.

جهت تهیه بستر کاشت، شخم عمیقی در اوایل بهار زده و برای نرم نمودن خاک عملیات دیسک‌زنی اجرا گردید. سپس واحدهای آزمایشی در ابعاد ۲ × ۲/۴ متر با شش خط کاشت با فاصله ۵۰ سانتی متر از واحد آزمایشی مجاور ایجاد گردید و فاصله تکرارها از یکدیگر یک متر قرار داده شد. کاشت در نیمه اول خرداد و به‌صورت نشاء با تراکم ۱۶ بوته در مترمربع انجام شد و مبارزه با علف‌های هرز در طول مدت آزمایش به‌صورت دستی انجام گردید. تیمارهای بیوچار و ورمی‌کمپوست قبل از کاشت به خاک اضافه شدند.

روش تهیه بیوچار

برای تولید بیوچار از روش تجزیه حرارتی استوانه‌ای استفاده شد (Lehmann & Joseph, 2009). در ابتدا برای تولید بیوچار مواد اولیه سلولزی شامل بقایای چوب و گیاهان زراعی تهیه و دسته‌بندی شدند. سپس برای تبدیل مواد سلولزی به کربن در شرایط بی‌هوازی، مواد سلولزی جهت تبخیر آب موجود به‌مدت دو ساعت در درجه حرارت ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند؛ سپس به‌مدت سه ساعت در درجه حرارت ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد برای بیرون رفتن مواد فرار قرار داده شدند. واکنش بعدی که مرحله کربونیزاسیون و تشکیل شبکه متخلخل بود، گرمازا بود که دو ساعت به‌طول انجامید و در گام پایانی کربن‌های تولید شده به دمای محیط رسیدند (Lehmann & Joseph, 2009) که مشخصات آن در جدول ۱ درج قابل مشاهده است.

جدول ۱- ویژگی‌های بیوچار استفاده شده

Table 1- Biochar properties used

ویژگی‌های بیوچار Biochar properties	عدد ید Iodine number ($mg.g^{-1}$)	مساحت سطح بر اساس استاندارد ASTM surface area according to standard ASTM ($m^2.g^{-1}$)	عدد متیلن بلو Methylene blue number ($mg.g^{-1}$)	محتوای رطوبت Moisture content (%)	pH	درصد خاکستر Ash (%)	درصد کربن C (%)	نیتروژن N ($g.kg^{-1}$)	دانه بندی Grading
	950-1100	950-1100	150-250	3-4	5.8	4-5	48-50	18-20	0.1≥

قارچ میکوریزا و باکتری‌های *ازتوباکتر* و *سودوموناس* (مایه تلقیحی میکروبی با غلظت نهایی 10^9 CFU.ml^{-1}) از بخش تحقیقات بیولوژی خاک مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه و قبل از کاشت با ریشه شسته شده نشاهای نعنا تلقیح شدند. بدین ترتیب که نشاها به مدت ۴۵ دقیقه در ظروف حاوی قارچ و باکتری قرار داده و سپس کشت شدند. لازم به ذکر است که جهت اجرای آزمایش از هیچ کود پایه‌ای استفاده نشد. به‌منظور بررسی وضعیت عناصر غذایی از خاک و کودهای آلی مورد استفاده نمونه‌گیری شد که نتایج حاصل از تجزیه در جدول ۲ قابل مشاهده است.

جدول ۲- خصوصیات خاک محل آزمایش و ورمی‌کمپوست

Table 2- Soil and vermicompost characteristics

	بافت Texture	لوم Loam (%)	شن Sand (%)	رس Clay (%)	K ($mg.kg^{-1}$)	P ($mg.kg^{-1}$)	N (%)	OC (%)	E.C ($dS.m^{-1}$)	pH
خاک Soil	لومی-رسی Loam-clay	45	14	41	132	4.95	0.08	0.75	1.74	7.37
ورمی‌کمپوست Vermicompost	-	-	-	-	1.47	1.74	1.77	22.7	3.36	8.25

در پایان دوره رشد و زمانی که پنج درصد گل‌ها ظاهر شدند، برداشت به‌صورت دستی انجام شد. جهت برداشت پس از حذف حاشیه در دو طرف کرت آزمایشی و همچنین حذف نیم متر از دو طرف طولی هر کرت، بوته‌ها از قسمتی از کرت که به‌عنوان فضای عملکرد (یک مترمربع) در نظر گرفته شده بود، کف‌بر شدند. محصول هر کرت به‌طور جداگانه در پاکت‌های کاغذی قرار گرفت و پس از انتقال به آزمایشگاه، وزن تر و خشک در مترمربع اندازه‌گیری شد.

برای اسانس گیری، ۳۰ گرم پودر سرشاخه گیاه نعنا فلفلی به‌طور دقیق توزین و به‌روش تقطیر با آب (۵۰۰ میلی لیتر آب)، اسانس آن با استفاده از کلونجر به‌مدت چهار ساعت استخراج شد. اسانس توسط سولفات سدیم بدون آب، آب گیری شد و میزان آن برحسب حجمی-وزنی (V/W) گزارش شد (Pharmacopoeia, 1998). اسانس مورد نظر پس از آماده‌سازی به دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC/MS) تزریق شد. شناسایی نوع ترکیبات اسانس با کمک طیف نرمال

آلکان‌ها و به‌دست آوردن شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص بازداری گزارش شده در کتاب Adams و مقایسه طیف جرمی هر یک از اجزای اسانس با طیف جرمی موجود در کتابخانه Willy نرم‌افزار GC/MS انجام پذیرفت. همچنین با استفاده از دستگاه GC، درصد ترکیبات اسانس تعیین شد (Adams, 2001). به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزارهای آماری SAS (ver- 9.2) و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

وزن تر و خشک اندام هوایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی بیوچار و کودهای آلی و زیستی تأثیر معنی‌داری بر وزن تر اندام هوایی در سطح احتمال یک درصد داشت. درحالی‌که برهم‌کنش تیمارهای آزمایش بر این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که مصرف ۱۰ تن در هکتار بیوچار سبب افزایش ۴۲/۹۶ درصدی وزن تر اندام هوایی در مقایسه با عدم مصرف آن شد (جدول ۴). در بررسی اثر اصلی کودهای آلی و زیستی نتایج گویای این مطلب بود که بیشترین و کمترین وزن تر اندام هوایی در مترمربع به‌ترتیب در تیمارهای آزمایشی بیوچار به‌همراه میکوریزا و شاهد (عدم مصرف کود آلی و زیستی) با میانگین ۶۶۷/۹۵ و ۴۱۸/۰۸ گرم در مترمربع حاصل شد که نشان‌دهنده افزایش ۶۰ درصدی وزن تر اندام هوایی می‌باشد (جدول ۴). شایان ذکر است که تیمار میکوریزا با تیمار ورمی‌کمپوست با میانگین ۶۳۰/۵۹ گرم در مترمربع تفاوت معنی‌داری نداشت و همچنین بین تیمار ورمی‌کمپوست با تیمار *ازتوباکتر* تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها گویای این مطلب بود که اثر متقابل بیوچار با کودهای آلی و زیستی سبب افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی شد (جدول ۳). بیشترین وزن خشک اندام هوایی گیاه با میانگین ۸۹/۰۸ گرم در مترمربع مربوط به مصرف توأم بیوچار و میکوریزا و کمترین متعلق به شاهد (عدم مصرف بیوچار و کود آلی و زیستی) با میانگین ۶۱/۷۶ گرم در مترمربع بود (شکل ۱). بین دو تیمار میکوریزا و ورمی‌کمپوست در شرایط کاربرد بیوچار و همچنین دو شاهد (عدم مصرف بیوچار و کود آلی و زیستی) و *سودوموناس* در شرایط عدم مصرف بیوچار به لحاظ آماری تفاوتی مشاهده نشد (شکل ۱).

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر وزن تر و خشک نعنا فلفلی

Table 3- Analysis of variance (mean of squares) of the effects of the experimental treatment on the fresh and dry weight of peppermint

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی d.f	وزن تر Fresh weight	وزن خشک Dry weight
بلوک Block	2	85468.80	516.40
بیوچار Biochar	1	296345.19**	1208.15**
کود Fertilizer	4	55976.30**	231.93**
بیوچار×کود Biochar ×fertilizer	4	5412.88ns	37.39**
خطای آزمایش Error	18	3680.76	6.21
ضریب تغییرات CV (%)	-	10.79	3.33

ns، ** و *: به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

ns, * and **: are non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایش بر وزن تر نعنا فلفلی

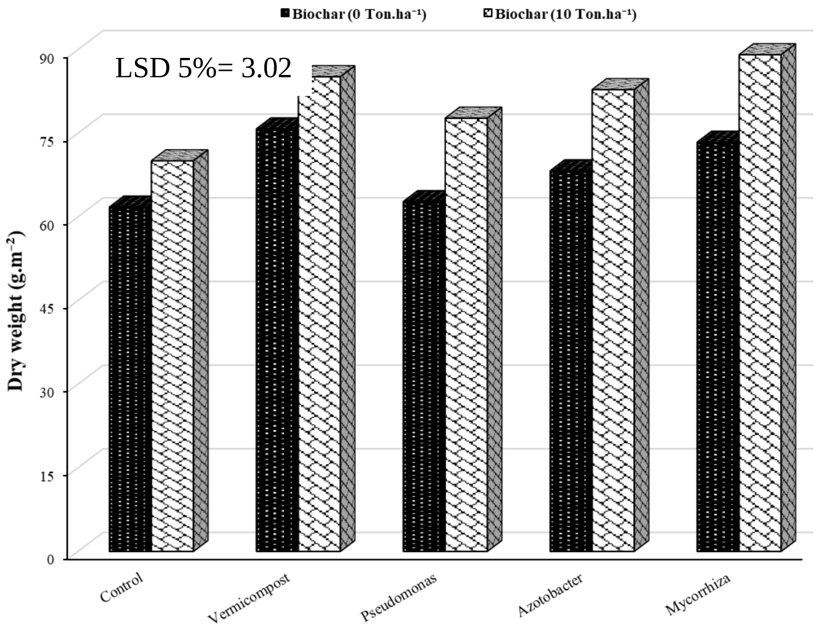
Table 4- Mean comparison of the experimental treatments effects effects of the experimental treatment on fresh weight of peppermint

تیمار Treatment		وزن تر Fresh weight ($g.m^{-2}$)
بیوچار Biochar	شاهد Control	462.68
	10 ($ton.ha^{-1}$)	661.46
LSD 5%		46.54
کودهای آلی و زیستی Organic and biological fertilizers	عدم مصرف کود No fertilizer	418.08
	ورمی‌کمپوست Vermicompost	630.59
	سودوموناس *Pseudomonas*	528.68
	ازتوباکتر *Azotobacter*	565.98
	میکوریزا Mycorrhiza	667.95
LSD 5%		73.59

در رابطه با اثر تحریکی باکتری‌های محرک رشد می‌توان بیان داشت که باکتری‌های محرک رشد از طریق سازوکارهای مختلف از جمله تولید هورمون‌های محرک رشد گیاه، تولید سیدروفور، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و سنتز آنزیم‌هایی که مقدار اتیلن را در گیاه تنظیم می‌کنند، سبب تحریک رشد گیاه می‌شوند (Stajkovic et al., 2011). با افزایش سطح هورمون‌ها به‌ویژه سیتوکینین، نرخ فتوسنتز از طریق عواملی همچون باز شدن روزنه‌ها، تأثیر بر انتقال یون‌ها و تنظیم مقدار کلروفیل بیشتر می‌شود (Johnson, 1984). زیاد شدن نرخ فتوسنتز می‌تواند با تحریک رشد سبب افزایش تولید زیست‌توده در گیاهان میکوریزی شود. در یک پژوهش با بررسی بهبود فراهمی تری‌فسفات کلسیم در گیاه علف‌لیمو (*Cymbopogon citratus*) با کاربرد ریزوباکتری، قارچ میکوریزا و *آزوسپیریلوم*، نتایج حاکی از آن بود که وزن خشک ساقه با مصرف قارچ *میکوریزا* *Glomus aggregatum* صرف‌نظر از مصرف فسفات افزایش یافت (Ratti et al., 2001). در مطالعه‌ای دیگر، محققین نشان دادند همزیستی قارچ میکوریزا *Glomus mosseae* و *G. intraradices* با گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) سبب افزایش وزن خشک ریشه، ساقه و در نتیجه، زیست‌توده کل، بیشتر از زمان استفاده از تیمار فسفر شد. ایشان بیان کردند که قارچ میکوریزا از طریق افزایش مقاومت و جذب عناصر غذایی سبب بهبود عملکرد زیست‌توده گیاهان می‌شود (Liu et al., 2014).

درصد اسانس

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده بیوچار و کود زیستی روی درصد اسانس در سطح یک درصد معنی‌دار گردید، امّا برهم‌کنش بیوچار و کود زیستی تأثیر معنی‌داری بر درصد اسانس نداشت (جدول ۵). بر اساس نتایج مقایسه میانگین مشخص شد که کاربرد بیوچار باعث افزایش درصد اسانس نسبت به عدم کاربرد آن شد (جدول ۶). در واقع، مصرف ۱۰ تن بیوچار در هکتار توانسته موجب افزایش ۵۲/۸۸ درصد اسانس نسبت به شاهد شود. در مقایسه میانگین اثر ساده کود آلی و زیستی معلوم گردید که بیشترین درصد اسانس مربوط به تیمار ورمی‌کمپوست، میکوریزا و *سودوموناس* بود (جدول ۶). همچنین کمترین درصد اسانس (۱/۴۷) نیز مربوط به شاهد بود.



شکل ۱- تأثیر تیمارهای آزمایش بر وزن خشک نعنا فلفلی (گرم در مترمربع)

Fig. 1- Influence of the effects of the experimental treatment on dry weight of peppermint (g.m^{-2})

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر درصد اسانس نعنا فلفلی

Table 5- Analysis of variance (mean of squares) of the effects of the experimental treatment on essential oil (%) of peppermint

منابع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی d.f	درصد اسانس Essential oil (%)
بلوک Block	2	0.014
بیوچار Biochar	1	7.60**
کود Fertilizer	4	2.11**
بیوچار×کود Biochar ×fertilizer	4	0.38^{ns}
خطا Error	18	0.17
ضریب تغییرات CV (%)	-	17.21

ns، ** و *: به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

ns, * and **: are non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

افزودن کمپوست و ورمی کمپوست به خاک با بهبود شرایط فیزیکی و فرآیندهای حیاتی خاک ضمن ایجاد یک بستر مناسب برای رشد ریشه سبب افزایش رشد، افزایش تولید ماده خشک، عملکرد گل، تسریع واکنش‌های سوخت و سازی، افزایش تولید و تجمع متابولیت‌ها و در نهایت، بهبود درصد و عملکرد اسانس می‌شود. نتایج تحقیقات پیشین حاکی از آن است که اسانس‌ها حاوی ترکیب‌های ترپنوئیدی بوده و واحدهای سازنده آن‌ها نیاز ضروری به عناصری نظیر نیتروژن و فسفر دارد. از این‌رو، ورمی‌کمپوست و کمپوست مصرف شده با تأثیر روی جذب نیتروژن و فسفر باعث افزایش درصد و عملکرد اسانس می‌گردند (Gupta et al., 2002). در پژوهشی، بهبود عملکرد اسانس در گیاه دارویی درمنه (*Artemisia pallens* L.) را ناشی از افزایش ماده خشک حاصل از مصرف ورمی کمپوست گزارش کردند (Pandey, 2005) که با نتایج سایر پژوهشگران هم‌راستا می‌باشد (Anwar et al., 2005; Liuc & Pank, 2005).

جدول ٦- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایش بر درصد اسانس نعنا فلفلی

Table 6- Mean comparison of the effects of the experimental treatment on essential oil (%) of peppermint

تیمار Treatment		درصد اسانس Essential oil (%)
بیوچار Biochar	شاهد Control	1.91
	10 (ton.ha^{-1})	2.92
LSD 5%		0.32
کودهای آلی و زیستی Organic and biological fertilizers	عدم مصرف کود No fertilizer	1.47
	ورمی‌کمپوست Vermicompost	2.92
	سودوموناس *Pseudomonas*	2.49
	ازتوباکتر *Azotobacter*	2.3
	میکوریزا Mycorrhiza	2.49
LSD 5%		0.5

منتول

با توجه به نتایج (جدول ۷) به‌دست آمده، مشخص شد که میزان منتول در اسانس نعنا فلفلی تحت تأثیر اثر ساده کودهای زیستی و بیوچار در سطح احتمال یک درصد و برهم‌کنش دو عامل فوق در سطح احتمال پنج درصد قرار گرفت و تأثیر معنی‌داری را از خود نشان داد.

اثر متقابل بین تیمارهای آزمایش نشان داد (جدول ۸) که بیشترین میزان منتول (۵۴/۷۳ درصد) در تیمار باکتری *ازتوباکتر* به همراه ۱۰ تن بیوچار و کمترین میزان منتول (۳۶/۰۵ درصد) در شاهد اتفاق افتاد، که نشان‌دهنده افزایش ۵۱/۸۲ درصدی منتول در اسانس نسبت به شاهد می‌باشد (جدول ۸). لازم به ذکر است که در شرایط مصرف بیوچار بین دو تیمار قارچ میکوریزا و باکتری *سودوموناس* تفاوت چندانی از لحاظ آماری مشاهده نگردید.

منتول و منتون اصلی‌ترین جزء اسانس نعنا فلفلی بوده و خواص ضد میکروبی دارند. درصد منتول در نعنا فلفلی از ۳۵ تا ۵۵ درصد و منتون از ۱۰ تا ۴۰ درصد در سنین مختلف گیاه متغیر است (Abdolmaleki, 2011; Heidari, 2008; Mehrafarin, 2011; Izadi, 2010). بیوچار به خاطر سطح ویژه زیاد و تراکم بار سطحی بالا، توانایی خاک برای نگهداری عناصر غذایی و آب قابل استفاده گیاه را افزایش و شستشوی عناصر غذایی و کودها را کاهش می‌دهد، همچنین موجب افزایش بازهای تبادلی، ظرفیت تبادل کاتیونی، کاهش وزن مخصوص ظاهری خاک می‌گردد (Laird et al., 2010; Liang et al., 2006). از طرفی، بیوچار، همانند دیگر اصلاح‌کننده‌های آلی خاک، شرایط فیزیکی و فرایندهای شیمیایی خاک را تغییر می‌دهد (Eastman, 2011; Herath et al., 2013) و در نتیجه، بر خصوصیات و رفتارهای جانداران خاک مؤثر است (Lehmann et al., 2011; Masto et al., 2013).

ساختار متخلخل بیوچار، سطوح ویژه بالا و توانایی آن برای جذب مواد آلی محلول، گازها و مواد معدنی محل مناسبی را برای سکونت میکروب‌ها، رشد و تکثیر آن‌ها مخصوصاً باکتری‌ها، اکتینومیست‌ها و قارچ‌های میکوریزا آرباسکولار فراهم می‌آورد و موجب افزایش فعالیت باکتری‌های محرک رشد موجود در خاک می‌شود (Lehmann et al., 2011). باکتری‌های محرک رشد از طریق سازوکارهای مختلفی از جمله تولید هورمون های محرک رشد گیاه، تولید سیدروفور، افزایش جذب فسفر توسط گیاه، تثبیت نیتروژن و افزایش جذب عناصر کم‌مصرف باعث افزایش فعالیت فتوسنتزی و توسعه پوشش گیاهی می‌شوند (Abou El-Yazeid, 2007). افزایش فعالیت فتوسنتزی با افزایش جذب عناصر غذایی را می‌توان مرتبط با مهم‌ترین بخش

فتوسنتزکننده در گیاه، یعنی برگ‌ها دانست، به‌طوری‌که با افزایش فراهمی عناصر غذایی، سطح برگ افزایش و با افزایش سطح برگ، تعداد روزنه به‌عنوان محل ورودی دی‌اکسید کربن و گلوکز به‌عنوان پیش‌ماده مناسب در سنتز اسانس‌ها، به‌عنوان نتیجه فرآیند فتوسنتز، زیاد شده و در نتیجه، پیش‌ماده لازم برای سنتز اسانس در گیاه فراهم می‌گردد (Sifola & Barbieri, 2006).

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای آزمایش بر ترکیبات اسانس نعنا فلفلی

Table 7- Analysis of variance (mean of squares) of the effects of the experimental treatment on essential oil compounds of peppermint

	منابع تغییرات S.O.V.	بلوک Block	بیوچار Biochar	کود Fertilizer	بیوچار ×کود Biochar×fertilizer	خطا Error	ضریب تغییرات C.V. (%)
ترکیبات اسانس Essential oil compounds	درجه آزادی d.f	2	1	4	4	18	-
منتول Menthol	-	5.72	237.44**	129.75**	23.22*	6.30	5.72
منتون Menthone	-	3.15	70.71**	95.92**	8.92*	2.39	6.55
آلفا- پینن α-pinene	-	0.0003	0.09**	0.42**	0.005**	0.0005	4.17
سابینن Sabinene	-	0.001	0.07ns	0.05ns	0.002ns	0.0009	5.63
بتا- پینن β-Pinene	-	0.0006	0.17**	0.13**	0.012ns	0.005	6.55
مایرسن Myrcene	-	0.001	0.07**	0.04**	0.002ns	0.001	9.35
لیمونن Limonene	-	0.0002	0.19ns	0.48ns	0.02ns	0.005	5.77
سینول ۱-۸ Cineol-1,8	-	0.06	10.95**	0.057ns	0.28*	0.76	7.41
ایزو منتون Iso menthone	-	2.16	29.44**	93.47**	3.06*	0.82	5.89
پلوژن Pulegone	-	0.082	9.47**	6.83**	0.32*	0.079	5.73
پیپرتون اکسید Piperitone oxide	-	0.0001	0.14**	0.001ns	0.003*	0.001	4.97
منتیل اکتیت Menthyl acetate	-	0.00003	0.40**	0.102**	0.13**	0.008	10.92
منتوفوران Menthofuran	-	0.052	9.06**	0.079**	0.53**	0.044	2.61

ns، ** و *: به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد

ns, * and **: are non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively.

گزارش محققین حاکی از آن است که استفاده از کودهای زیستی (حاوی ریزجاندارانی مثل *ازتوباکتر* و *آزوسپریلوم*) و جایگزینی آن‌ها با تنظیم‌کننده‌های رشد مصنوعی در بهبود ویژگی‌های رشد و ترکیب‌های اسانس گیاه مریم‌گلی (*Salvia officinalis*) کارآیی بالایی دارد (Youssef et al., 2004). همچنین گزارش شده است که افزایش تولید اسانس در تلقیح باکتری‌ها می‌تواند به‌دلیل فعال شدن مکانیسم دفاعی گیاهان باشد (Banchio et al., 2010) که با گزارش‌های سایر محققین در این مورد که تیمار باکتری‌های ریزوسفری باعث افزایش میزان ترکیبات اصلی اسانس در گیاهان دارویی یکساله مثل ریحان و چندساله مثل مرزنجوش (*Origanum majorana*) می‌شود، مطابقت دارد (Maricel et al., 2011; Banchio et al., 2009).

منتون

نتایج تجزیه واریانس مبین این مطلب بود که میزان منتـون نعنـا فلفلی تحت تأثیر اثر ساده کود آلی و زیستی و اثـر سـاده بیوچـار در سطح احتمال یک درصد و بـرهم‌کـنش بـین تیمارهـای آزمـایش در سطح احتمال پنج درصد قرار گرفته است (جدول ۷). بیشینه و کمینـه میزان منتون به‌ترتیب مربوط به تیمار باکتری *سودوموناس* با مصـرف بیوچار (۲۹/۹۸ درصد) و شاهد (بدون کـود آلـی و زیسـتی و بیوچـار) (۱۸/۱۴ درصد) بود (جدول ۸). مشاهده می‌شود که اعمال تیمار کودی *سودوموناس* به‌همراه بیوچار توانسته موجب افـزایش ۶۵/۲۷ درصـدی منتون در اسانس نعنا فلفلی شود. شـایان ذکـر اسـت کـه بـین تیمـار *سودوموناس* به همراه مصرف بیوچـار و *ازتوبـاکتر* بـا مصـرف بیوچـار تفاوت معنی‌داری به لحاظ آماری مشاهده نشد (جدول ۸).

جدول ۸- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایش بر ترکیبات اسانس نعنا فلفلی

Table 8- Mean comparison of the effects of the experimental treatment on essential oil compounds of peppermint

نام ترکیب Compound name	بیوچار Biochar **10 (ton.ha^{-1})**					بیوچار Biochar **0 (ton.ha^{-1})**					LSD 5%
	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	
منتول Menthol	38.53	42.53	47.13	54.73	50.21	36.05	40.69	40.49	43.05	44.72	3.04
منتون Menthone	19.28	20.50	29.98	28.70	27.26	18.14	19.78	26.30	21.86	24.26	1.88
آلفا- پینن α-Pinene	0.49	0.51	0.65	0.76	0.65	0.42	0.46	0.53	0.56	0.54	0.03
سینول ۱-۸ Cineol-1,8	4.04	4.26	4.45	4.66	4.28	3.18	3.473	3.13	2.79	3.09	1.06
ایزو منتون Iso Menthone	11.58	12.30	17.25	22.93	18.01	10.74	11.70	14.91	18.75	16.07	1.10
پلوژن Pulegone	4.03	4.29	6.82	6.09	6.09	3.30	3.61	5.53	4.27	5.00	0.34
پیپرتون اکسید Piperitone oxide	0.75	0.75	0.73	0.82	0.76	0.60	0.65	0.64	0.60	0.62	0.04
منتیل اکتیت Menthyl acetate	0.96	1.24	1.09	0.62	0.82	0.62	0.80	0.52	0.70	0.91	0.11
منتوفوران Menthofuran	8.09	9.19	8.92	8.20	8.51	6.79	7.49	7.36	7.69	8.08	0.25

T_1: شاهد، T_2: ورمی‌کمپوست، T_3: *سودوموناس*، T_4: *ازتوباکتر*، T_5: میکوریزا

T_1: No fertilizer, T_2: Vermicompost, T_3: *Pseudomonas*, T_4: *Azotobacter*, T_5: Mycorrhiza

محتوای زیاد کربن و پایداری بیوچـار سـطح مـواد آلـی خـاک را افزایش می دهد که خود نقش اساسی در چرخه عناصر غذایی و بهبود منابع آب قابل دسترس برای گیاه، ظرفیت بـافری و سـاختمان خـاک دارد (Steinbeiss et al., 2009). بیوچـار فعالیـت انـواع مختلـف میکروب‌های خاک را که از نظـر کشـاورزی مهـم هسـتند، تحریـک مـی‌نمایـد (Warnock et al., 2010; Anderson et al., 2011). باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد و قارچ‌های میکوریزا آرباسـکولار از طریق مکانیسم‌های مختلفی مانند افزایش تثبیت نیتـروژن، تولیـد اکسین، جیبرلین، سیتوکینین و اتیلن، انحلال فسفات‌ها، اکسیداسـیون سولفور، افزایش قابلیت دسترسـی نیتـرات، ترشـح آنتـی‌بیوتیـک‌هـا، افزایش رشد و توسعه ریشه و در نتیجه، جذب آب و مواد غذایی باعث تغییر شرایط محیطی و در نتیجه، تغییر در ترکیبات شـیمیایی اسـانس می‌گردند (Santoro et al., 2011; Prasad, 2011).

پژوهشگران تأثیر باکتری‌های ریزوسفری محرک رشد گیاه را بـر ترکیبات عمده اسانس گیاه نعنا فلفلی بررسـی و گـزارش کردنـد کـه تیمار *سودوموناس فلورسنس* باعث افزایش زیست‌ساختی ترکیب غالب اسـانس (پولگـون و منتـون) گردیـد (Santoro et al., 2011). در پژوهشی دیگر، محققین تأثیر باکتری‌های ریزوسـفری محـرک رشـد (*آزوسپیریلوم برازیلنس*، *سودوموناس فلورنس* و *آزوسپیریلوم برازیلنس* + *سودوموناس فلورنس*) را بر ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه جعفـری

معطر (*Tagetes minuta*) بررسی و گزارش کردند که هر چند که لینالول و هومولن تحت تأثیر هیچ کدام از تیمارها قرار نگرفتند؛ امّا *آزوسپریلیوم برازیلنس* باعث افزایش ای- اوسیمنون (غالب‌ترین ترکیب اسانس) و ای- تاقتون به ترتیب به‌میزان ۷۱ و ۶۶ درصد گردید. *سودوموناس فلورسنس* هم باعث افزایش ترکیبات ای- اوسیمنن، زد- اوسیمنن، ای- تاقتون و لیمونن شد و تیمار ترکیبی آن‌ها نیز باعث بیشترین افزایش ترکیبات مذکور گردید (Cappellari et al., 2013).

کیفیت اسانس (سایر ترکیبات)

نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده بیوچار روی ترکیبات α-Pinene، β-Pinene، Myrcene، Cineol-1,8، iso Menthone، Pulegone، Piperitone oxide، Menthyl acetate و Menthofuran در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۷). همچنین نتایج گویای این مطلب بود که اثرات متقابل بیوچار و کود زیستی بر ترکیبات α-Pinene، Menthyl acetate و Menthofuran در سطح احتمال یک درصد و بر سایر ترکیبات (به‌جز Sabinene، β-Pinene، Myrcene و Limonene) در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۷). درحالی‌که کلیه اثرات ساده بیوچار و کود زیستی و اثر متقابل بیوچار با کود زیستی نیز در ترکیبات Sabinene و Limonene هیچ تأثیر معنی‌داری از خود نشان نداد (جدول ۷). در بررسی اثرات ساده بیوچار و کود زیستی بر ترکیبات β-Pinene و Myrcene مشخص گردید که در اثر ساده بیوچار بیشترین میزان هر دو ترکیب در تیمار ۱۰ تن بیوچار در هکتار به‌دست آمد، و مصرف بیوچار توانست در ترکیب β-Pinene موجب افزایش ۱۴/۴۲ درصدی و در ترکیب Myrcene موجب افزایش ۲۳/۸۱ درصدی نسبت عدم مصرف بیوچار شود (جدول ۹). همچنین در اثر ساده کود زیستی نیز بیشترین میزان هر دو ترکیب β-Pinene و Myrcene در تیمار مصرف میکوریزا به‌دست آمد (جدول ۹).

جدول ۹- مقایسه میانگین اثر تیمارهای آزمایش بر ترکیبات اسانس نعنا فلفلی

Table 9- Mean comparison of the experimental treatments effects on essential oil compounds of peppermint

تیمار Treatment		بتا-پینن β-pinene (%)	مایرسن Myrcene (%)
بیوچار Biochar	شاهد Control	1.04	0.42
	10 (ton.ha-1)	1.19	0.52
LSD 5%		0.05	0.02
کودهای آلی و زیستی Organic and biological fertilizers	عدم مصرف کود No fertilizer	0.87	0.34
	ورمی‌کمپوست Vermicompost	1.21	0.43
	سودوموناس *Pseudomonas*	1.16	0.51
	ازتوباکتر *Azotobacter*	1.09	0.49
	میکوریزا Mycorrhiza	1.25	0.57
LSD 5%		0.09	0.04

در تفسیر نتایج حاصل از بهبود درصد و عملکرد اسانس در اثر تلقیح تیمارهای باکتریایی و قارچی می‌توان اظهار داشت که تولید اسانس حاصل مجموعه فرآیندهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک می‌باشد. در این رابطه، عوامل محیطی تأثیر به‌سزایی در تولید اسانس دارند. از جمله عوامل محیطی می توان به عناصر غذایی اشاره نمود، به‌طوری‌که تیمارهای قارچ میکوریزا از طریق گسترش هیف و توسعه سیستم ریشه، سطح جذب آب بیشتری برای گیاه فراهم و به دنبال جذب آب بیشتر، مواد غذایی بیشتری نیز جذب می‌شود (Auge, 2001). در رابطه با نقش کودهای زیستی بر کمیت و کیفیت اسانس گیاهان دارویی، محققین نشان دادند که تلقیح گیاه دارویی نعناع با چهار گونه قارچ میکوریزا سبب افزایش بارز کمیت و کیفیت اسانس نعناع (درصد و عملکرد اسانس و درصد منتول) در شرایط غیرشور در

مقایسه با شاهد شد (Bharti et al., 2013). در پژوهش دیگری، مشخص شد که همزیستی گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) با دو گونه از قارچ میکوریزی به‌طور معنی‌داری موجب بهبود میزان اسانس و کیفیت آن می‌شود، به نحوی که مقدار اجزای مهمی مانند ژرانیول و لینالول در ترکیب اسانس به‌طور چشمگیری افزایش، ولی میزان آنتول و بتا- المن در مقایسه با شاهد کاهش داشت (Kapoor et al., 2002).

نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل گویای این مطلب بود که به‌کارگیری باکتری *ازتوباکتر* به همراه مصرف ۱۰ تن بیوچار توانست موجب به‌دست آوردن بیشترین میزان ترکیبات α-Pinene، Cineol-1,8، iso Menthone و Piperitone oxide شود (جدول ۷). این در حالی است که در ترکیب Cineol-1,8 بین تیمارهای بیوچار به همراه *ازتوباکتر*، بیوچار + *سودوموناس*، بیوچار + مایکوریزا و بیوچار + ورمی‌کمپوست تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده نگردید (جدول ۷). در تحقیقی دیگر که روی گیاه دارویی اسفرزه (*Plantago ovata*) انجام شد، نتایج نشان داد که کاربرد کودهای زیستی از جمله *ازتوباکتر* سبب افزایش معنی‌داری در عملکرد کمّی و کیفی این گیاه شد (Khalil, 2006). نتایج دیگر محققان نیز حاکی از این امر می‌باشد، به‌طوری که که تلقیح گیاه مرزنجوش (*Origanum vulgare* L.) با گونه های مختلف *ازتوباکتر* سبب افزایش زیست‌توده، سرعت رشد و میزان اسانس در این گیاهان می‌شود (Fatma et al., 2006). کاربرد کودهای زیستی *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* باعث افزایش رشد رویشی، وزن تر، وزن خشک و میزان اسانس در گیاه دارویی رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill.) گردید (Sharaf-Eldin & Mahfuz, 2007).

همچنین مصرف باکتری *سودوموناس* به همراه ۱۰ تن بیوچار توانست موجب به‌دست آوردن بیشترین میزان ترکیب Pulegone گردد (جدول ۸). در تحقیقی تحت عنوان اثر باکتری‌های محرک رشد (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis*, *Sinorhizobium meliloti*, *Bradyrhizobium*) بر کمیت و کیفیت اسانس گیاه دارویی مرزنجوش گزارش شد که فقط *Pseudomonas fluorescens* و *Bradyrhizobium* موجب افزایش معنی‌دار عملکرد اسانس و ترکیب غالب اسانس (ترانس سابینن هیدرات و تربینن- ۴- اول) نسبت به شاهد و دیگر تیمارهای باکتریایی گردید (Banchio et al., 2008).

شایان ذکر است که مصرف ورمی‌کمپوست به همراه مصرف ۱۰ تن بیوچار میزان ترکیبات Menthyl acetate و Menthofuran را افزایش دهد (جدول ۸). در همین راستا، مشاهده شد که در هر دو ترکیب Menthyl acetate و Menthofuran تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای بیوچار + ورمی‌کمپوست و بیوچار + *سودوموناس* وجود ندارد. افزایش مقادیر ورمی‌کمپوست از طریق فراهم نمودن جذب بیشتر فسفر و نیتروژن که در اجزای تشکیل‌دهنده اسانس حضور دارند موجب افزایش میزان اسانس پیکر رویشی می‌گردد. در همین راستا، در پژوهشی که با استفاده از مقادیر مختلف ورمی‌کمپوست بر گیاه ریحان صورت گرفت، مشخص شد که مصرف پنج تن ورمی‌کمپوست برتری محسوسی از نظر میزان اسانس نسبت به شاهد داشت (Anwar et al., 2005).

نتیجه‌گیری

در پایان، نتایج کلی حاکی از آن بود که کاربرد بیوچار می‌تواند هم در کیفیت و هم در کمیت اسانس نعنا فلفلی مؤثر باشد، بیشترین درصد اسانس و اکثر ترکیبات اسانس نعنا فلفلی در تیمارهای همراه با مصرف بیوچار به‌دست آمد. به نظر می‌رسد کاربرد بیوچار در خاک‌های فقیر می‌تواند موجب حفظ و در دسترس قرار دادن عناصر غذایی موجود در خاک برای گیاه شود. از طرفی دیگر، کاربرد کودهای زیستی و آلی توانست منجر به به افزایش درصد اسانس و ترکیبات کیفی اسانس نعنا فلفلی شود. در این بین، کاربرد باکتری *ازتوباکتر* و *سودوموناس* به همراه بیوچار بیشترین تأثیر را بر کیفیت اسانس نعنا فلفلی به‌خصوص در ترکیبات منتول و منتون داشت. در نهایت، می‌توان اذعان داشت که کاربرد توأمان بیوچار به‌همراه کودهای زیستی (به‌ویژه باکتری‌های محرک رشد *ازتوباکتر* و *سودوموناس*) می‌تواند تأثیر زیادی در افزایش کمّی و کیفی اسانس نعنا فلفلی در شرایط کشاورزی اکولوژیک داشته باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به‌دلیل پشتیبانی مالی از این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی مصوب با شماره طرح ۰۳-۱۳۹۹-۰۱ و همچنین از تمام افرادی که ما را در انجام این طرح پژوهشی یاری

نمودند، تشکر و قدردانی به عمل آورند.

References

Abbaspour, F., Asghari, H.R., Rezvani Moghaddam, P., and Abbasdokht, H., 2018. The effect of biochar application in improving some soil characteristics and growth of *Nigella sativa* L. in water stress conditions. Iranian Journal of Field Crops Research 17(1): 39-52. (In Persian with English Summary). 10.22067/gsc.v17i1.63344

Abdolmaleki, M., Bahraminejad, S., Salari, M., Abbasi, S., and Panjeke, N., 2011. Antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita* L.) on phytopathogenic fungi. Journal of Medicinal Plants 2(38): 26-34. (In Persian with English Summary)

Abou El-Yazeid, A., Abou-Aly, H.A., Mady, M.A., and Moussa, S.A.M., 2007. Enhancing growth, productivity and quality of squash plants using phosphate-dissolving microorganisms (bio-phosphor) combined with boron foliar spray. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 3(4): 274-286.

Adams, R.P., 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing. Carol Stream, IL, USA; pp: 469.

Adel, M., Abedian Amiri, A., Zorriehzahra, J., Nematolahi, A., and Esteban, M.A., 2015. Effects of dietary peppermint (*Mentha piperita*) on growth performance, chemical body composition and hematological and immune parameters of fry Caspian white fish (*Rutilus frisii* kutum). Fish Shellfish Immunol 45(2): 841-847. 10.1016/j.fsi.2015.06.010

Anderson, C.R., Condron, L.M., Clough, T.J., Fiers, M., Stewart, A., Hill, R.A., and Sherlock, R.R., 2011. Biochar induced soil microbial community change: Implications for biogeochemical cycling of carbon, nitrogen and phosphorus. Pedobiologia 54: 309-320. 10.1016/j.pedobi.2011.07.005

Anwar, M., Patra, D.D., Chand, S., and Khanuja, S.P.S., 2005. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation, and oil quality of French basil. Communications in Soil Science and Plant Analysis 36(13-14): 1737-1746. 10.1081/CSS-200062434

Asghari, M., Yousefi rad, M., Masoumi Zavarian, A., 2016. Effects of organic fertilizers of compost and vermicompost on qualitative and quantitative traits of lemon verbena. Journal of Medicinal Plants 58(2): 63-71. (In Persian with English Summary)

Auge, R.M., 2001. Water relation, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. Journal of Mycorriza 11: 3-42. 10.1007/s005720100097

Banchio, E., Bogino, P.C., Zygadlo, J., and Giordano, W., 2008. Plant growth promoting rhizobacteria improve growth and essential oil yield in *Origanum majorana* L.. Biochemical Systematics and Ecology 30: 766-771. 10.1016/j.bse.2008.08.006

Banchio, E., Xie, X., Zhang, H., and Pare, P.W., 2009. Soil bacteria elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. Journal of Agriculture and Food Chemistry 57(2): 653-657. 10.1021/jf8020305

Behnam, H., Farrokhian Firouzi, A., and Moezzi, A.A., 2016. Effect of biochar and compost sugarcane bagasse on some soil mechanical properties. Water and Soil Conservation 23(4): 235-250. (In Persian with English Summary). 10.22069/JWFST.2016.9777.2407

Bharti, N., Baghel, S., Barnawal, D., Yadav, A., and Karla, A., 2013. The greater effectiveness of *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* in improving productivity, oil content and tolerance of salt-stressed menthol mint (*Mentha arvensis* L.). Journal of the Science of Food and Agriculture 93: 2154-2161. 10.1002/jsfa.6021.

Cappellari, L.D.R., Santoro, M.V., Nievas, F., Giordano, W., and Banchio, E., 2013. Increase of secondary metabolite content in marigold by inoculation with plant growth-promoting rhizobacteria. Applied Soil Ecology 70: 16-22. 10.1016/j.apsoil.2013.04.001

Dai, J., Orsat, V., Raghavan, G.S.V., and Yaylayan, V., 2010. Investigation of various factors for the extraction of peppermint (*Mentha piperita* L.) leaves. Journal of Food Engineering 96: 540-543. 10.1016/j.jfoodeng.2009.08.037

Divband Hafshejani, L., Naseri, A., Hooshmand, A., Abbasi, F., and Soltani Mohammadi, A., 2017. Effect of sugarcane bagasse biochar application on chemical properties a sandy loam soil. Irrigation Sciences and Engineering 40(1): 63-72. (In Persian with English Summary). 10.22055/JISE.2017.12667

Eastman, C.M., 2011. Soil physical characteristics of an acric ochraqualf amended with biochar. M.Sc. Thesis. Ohio State University, USA.

Fatma, E.M., El-Zamik, I., Tomader, T., El-Hadidy, H.I., El-Fattah Abd, L., and Seham Salem, H., 2006. Efficiency of

biofertilizers, organic and inorganic amendments application on growth and essential oil of marjoram (*Majorana hortensis* L.) plants grown in sandy and calcareous. Agricultural Microbiology (Department Faculty of Agriculture) Zagazig University and Soil Fertility and Microbiology Department, Desert Research Center, Cairo, Egypt.

Fayazi, H., Abdali Mashhadi, A.R., Koochakzadeh, A., Papzan, A.A., and Arzanesh, M.H., 2014. Evaluation of echinacea (*Echinacea purpurea* L.) medicinal plant response to the usage of organic and biological fertilizers. The Second National Conference of Medicinal Plants and Sustainable Agriculture, 21 August, Hamedan p. 1-7. (In Persian)

Gupta, M.L., Prasad, A., Ram, M., and Kumar, S., 2002. Effect of the *vesicular-arbuscular mycorrhizal* (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. Bioresource Technology 81(1): 77-79. 10.1016/S0960-8524(01)00109-2

Habibi, S., and Majidian, M., 2014. Effect of different levels of nitrogen fertilizer and vermicompost on yield and quality of sweet corn (*Zea mays* Hybrid Chase). Journal of Crop Production and Processing 4(11): 15-25. (In Persian with English Summary). 10.29252/jcpp

Heidari, F., Zehtab Salmasi, S., Javanshir, A., Aliari, H., and Dadpoor, M.R., 2008. The effects of application microelements and plant density on phonology, yield and essential oil of peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 24(1): 1-9. (In Persian with English Summary)

Herath, H.M., Arbestain, M.C., and Hedley, M., 2013. Effect of biochar on soil physical properties in two contrasting soils: An Alfisol and an Andisol. Geoderma 209-210: 188-197. 10.1016/j.geoderma.2013.06.016

Heywood, V.H., 2002. The conservation of genetic and chemical diversity in medicinal and aromatic plants. pp. 13-22. In: Sener, B. (Ed.), Biodiversity: Biomolecular Aspects of Biodiversity and Innovative Utilization, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.

Izadi, Z., Ahmadvand, G.H., Esna-Ashari, M., and Piri, M., 2010. The effect of nitrogen and plant density on some growth characteristics, yield and essential oil in peppermint (*Mentha piperita* L.). Iranian Journal of Field Crops Research 8(5): 824-836. (In Persian with English Summary). 10.22067/GSC.V8I5.8025

Jahan, M., Amiri, M.B., Shabahang, J., and Tahamy, M.K., 2012. The simultaneous use of organic fertilizers and biological medicinal plant on some qualitative and quantitative characteristics of summer squash (*Cucurbita pepo* L.). Iranian Journal of Agricultural Research 11(1): 87-73. (In Persian with English Summary). 10.22067/GSC.V11I1.24121

Johnson, C.R., 1984. Phosphorus nutrition on mycorrhizal colonization, photosynthesis, growth and nutrient composition of *Citrus aurantium*. Plant and Soil 80(1): 35-42. 10.1007/BF02232937

Kapoor, R., Giri, B., and Mukerji, K.G., 2002. Mycorrhization of coriander (*Coriandrum sativum* L.) to enhance the concentration and quality of essential oil. Journal of the Science of Food and Agriculture 82(4): 339-342. 10.1002/jsfa.1039

Khalil, M.Y., 2006. How far would *Plantago afra* L. respond to bio and organic manures amendments? Research Journal of Biological Science 2(1): 12-21.

Kumar, A., Samarth, R.M., and Yasmeen, S., 2004. Anticancer and radioprotective potentials of *Mentha piperita* L.. BioFactors 22(1-4): 87-91. 10.1002/biof.5520220117

Laird, D.A., Rogovska, N.P., Garcia-Perez, M., Collins, H.P., Streubel, J.D., and Smith, M., 2010. Pyrolysis and biochar opportunities for distributed production and soil quality enhancement. In: Braun R. Karlen D. and Johnson D. Sustainable Alternative Fuel Feedstock Opportunities, Challenges and Roadmaps for Six U.S. Regions. Proceedings of the Sustainable Feedstocks for Advance Biofuels Workshop, pp. 257-281.

Lehmann, J., and Joseph, S., 2009. Biochar for Environmental Management: Science and Technology. Earthscan. London.

Lehmann, J., Rillig, M.C., Thies, J., Masiello, C.A., Hockaday, W.C., and Crowley, D., 2011. Biochar effects on soil biota- A review. Soil Biology and Biochemistry 43: 1812-1836. 10.1016/j.soilbio.2011.04.022

Liang, B., Lehmann, J., Solomon, D., Kinyangi, J., Grossman, J., O'Neill, B., Skjemstad, J.O., Theis, J., Luizao, F.J., Peterson, J., and Neves, E.G., 2006. Black carbon increases cation exchange capacity in soils. Soil Science Society of America Journal 70: 1719-1730. 10.2136/sssaj2005.0383

Liu, H., Tang, Y., Nell, M., Zitter-Eglseer, K., Wawscrah, C., Copp, B., Wang, S., and Novak, J., 2014. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization *Glycyrrhiza glabra* roots enhance plant biomass, phosphorus uptake and concentration of root secondary metabolites. Journal of Arid Land 6(2): 186-194. 10.1007/s40333-013-0208-5

Liuc, J., and Pank, B., 2005. Effect of vermicompost and fertility levels on growth and oil yield of Roman chamomile. Scientia Pharmaceutica 46: 63-69.

Mafakheri, S., 2017. Effect of some organic and chemical fertilizers on morphological and biochemical factors of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.). Plant Productions 40(3): 27-40. (In Persian). 10.22055/ppd.2017.19128.1378

Makkizadeh, M., Nasrollahzadeh, S., Zehtab Salmasi, S., Chaichi, M., and Khavazi, K., 2012. The effect of organic, biologic and chemical fertilizers on quantitative and qualitative characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Journal of Agriculture Science and Sustainable Production 22: 1-12

Maricel, V.S., Zygadlo, J., Giordano, W., and Banchio, E., 2011. Volatile organic compounds from rhizobacteria increase biosynthesis of essential oils and growth parameters in peppermint (*Mentha piperita*). Plant Physiology and Biochem 49(10): 1177-1182. 10.1016/j.plaphy.2011.07.016

Masto, R.E., Ansari, M.A., George, J., Selvi, V.A., and Ram, L.C., 2013. Coapplication of biochar and lignite fly ash on soil nutrients and biological parameters at different crop growth stages of *Zea mays*. Ecological Engineering 58: 314-322. 10.1016/j.ecoleng.2013.07.011

Mehrafarin, A., Naghdi Badi, H., Poorhadi, M., Hadavi, E., Qavami, N., and Kadkhoda, Z., 2011. Phytochemical and agronomical response of peppermint (*Mentha piperita* L.) to bio-fertilizers and urea fertilizer application. Journal of Medicinal Plants 4(40): 107-118. (In Persian with English Summary)

Mohammadi, S., Boroomand, N., and Moghbeli, E., 2018. Effect of different mycorrhizal species inoculation on concentration of nutrient elements, yield per plant and antioxidant activity in peppermint (*Mentha piperita*) under salt stress. Soil Management and Sustainable Production 8(4): 127-142. (In Persian with English Summary). 10.22069/EJSMS.2019.12936.1734

Omid Beigi, R., 2000. Findings from the Production of Medicinal Plants. Astane Ghodse Razavi Press, Mashhad, Iran. Volume 3 (In Persian)

Pandey, R., 2005. Management of meloidogyne incognita in artemisia pallens with bio-organics. Phytopara 33(3): 304-308. 10.1007/BF02979868

Pooyanfar, M., Norafkan, H., Ehsasi, H., and Mahmoodi Rad, Z., 2017. The effect of foliar application of vermicompost tea on morphological characteristics and yield components of peppermint. Third International Conference on Sustainable Development, Solutions and Challenges Focusing on Agriculture, Natural Resources, Environment and Tourism. March 9, Tabriz, Iran. (In Persian)

Prasad, A., Kumar, S., Khaliq, A., and Pandey, A., 2011. Heavy metals and arbuscular mycorrhizal (AM) fungi can alter the yield and chemical composition of volatile oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.). Biology and Fertility Soils 47: 853-861. 10.1007/s00374-011-0590-0

Ratti, N., Kumar, S., Verma, H.N., and Gautam, S.P., 2001. Improvement in bioavailability of tricalcium phosphate to *Cymbopogon martinii* var. motia by rhizobacteria, AMF and *Azospirillum* inoculation. Microbiology Research 156: 145-149. 10.1078/0944-5013-00095

Santoro, M.V., Zygadlo, J., Giordano, W., and Banchio, E., 2011. Volatile organic compounds from rhizobacteria increase biosynthesis of essential oils and growth parameters in peppermint (*Mentha piperita* L.). Plant Physiology and Biochemistry 49: 1177-1182. 10.1016/j.plaphy.2011.07.016

Seif Sahandi, M., Mehrafarin, A., Khalighi-Sigaroodi, F., Sharifi, M., and Naghdi Badi, H., 2018. Review on anatomical, phytochemical and pharmacological properties of peppermint (*Mentha piperita* L.). Journal of Medicinal Plant 69(1): 16-33. (In Persian with English Summary)

Sharaf-Eldin, M.A., and Mahfouz, S.A., 2007. Effect of mineral vs. biofertilizer on growth yield and essential oil content of fennel (*Foeniculum vulgare* mill). International Agrophysics 21: 361-366. 10.1055/s-2007-987419

Sifola, M., and Barbieri, G., 2006. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. Scientia Horticulture 108(4): 408-413. 10.1016/j.scienta.2006.02.002

Stajkovic, O., Delic, D., Josic, D., Kuzmanovic, D., Rasulic, N., and Knezevic-Vukcevic, J., 2011. Improvement of common bean growth-promoting bacteria. Romanian Biotechnological Letters 16(1): 5919-5926.

Steinbeiss, S., Gleixner, G., and Antonietti, M., 2009. Effect of biochar amendment on soil carbon balance and soil microbial activity. Soil Biology and Biochemistry 41: 1301-1310. 10.1016/j.soilbio.2009.03.016

Street, R.A., 2012. Heavy metals in medicinal plant products- An African perspective. South African Journal of Botany 82: 67-74. 10.1016/j.sajb.2012.07.013

Sun, Z., Wang, H., Wang, J., Zhou, L., and Yang, P., 2014. Chemical composition and anti-inflammatory, cytotoxic and antioxidant activities of essential oil from leaves of *Mentha piperita* grown in china. Plos One 9(12): 1-15. 10.1371/journal.pone.0114767

USP37 - NF32. U.S., 2014. Pharmacopeia National Formulary. United States Pharmacopeial. USA. pp. 6787.

Vessey, J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizer. Plant and Soil 255: 271- 286. 10.1023/A:1026037216893

Warnock, D.D., Mummeya, D.L., McBride, B., Major, J., Lehmann, J., and Rillig, M.C., 2010. Influences of nonherbaceous biochar on arbuscular mycorrhizal fungal abundances in roots and soils: results from growth chamber and field experiments. Applied Soil Ecology 46: 450-456. 10.1016/j.apsoil.2010.09.002

Wu, S.C., Cao, Z.H., Li, Z.G., Cheung, K.C., and Wong, M.H., 2005. Effects of biofertilizer containing n-fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: A greenhouse trial. Geoderma 125(1-2): 155-166. 10.1016/j.geoderma.2004.07.003

Yaghoby, M., Amerian, M., and Asghar, H., 2014. Comparison of the effect of biological and biofertilized fertilizers on some physiological traits in bean growing. The 2nd National Conference of the Desert with the Approach of the Management of Arid and Desert Areas. Semnan University, Iran. (In Persian)

Youssef, A.A., Edri, A.E., and Maa, A.M., 2004. A comparative study between some plant growth regulators and certain growth hormones producing microorganisms on growth and essential oil composition of *Salvia officinalis* L.. Plant Annals of Agricultural Science 49: 299-311.